

파라벤류에 대한 오일의 분배계수와 실제 방부력과의 상관관계 연구

한종섭, 김종일, 김 의, 김형진, 강세훈
(LG 화학 생활건강연구소)

A study of the relationship between partition coefficients of oils and antimicrobial effects

Jong-sub Han, Jong-il Kim, Eui Kim
Hyung-Jin Kim, Se-hoon Kang
(Cosmetics & Household Products R&D Center, LG Chemical Ltd.)

요 약

Paraben에 대한 Oil의 분배계수를 측정하고, 실제 에멀전을 제조하여 방부력을 비교 측정하였다.

분배계수측정은 Hydrocarbon, Ester, Silicone Oil류로 분류하여 실험을 하였으며, Stirring Time, Temperature, Volume ratio에 따른 최적실험조건을 결정하여 실험을 수행하였다.

각각의 oil 종류에 따라 분배계수값의 차이가 많았으며, 특히 Ester oil류의 분배계수값이 다른 oil 류에 비해 상당히 높음을 알 수 있었고, oil의 Paraben에 대한 분배계수에 Propylene Glycol이 좋은 효과를 나타냄을 관찰하였다. 또한 각각의 oil을 주 처방으로한 에멀전을 제조하여, Challenge test에 주로 사용하는 5종의 미생물을 접종하여 균의 사멸속도를 비교한 결과, 분배계수가 낮은 oil을 함유한 에멀전일수록 빠른 사멸속도를 보여주었다.

1. 서 론

방부제는 제품의 제조 시부터 소비자가 그 제품을 모두 사용할 때까지 제품의 부패 및 변질을 막아주는 역할을 하는 것으로서, 제품의 유통·저장에 수반되는 시간적 요소 및 기후 조건 등에 이르기까지 여러 요소를 고려해야 하기 때문에 제품에 적용할 최적량을 결정하는 것은 매우 복잡하여 신중하게 고려해야 한다.

특히, 화장품에 방부제를 배합하는 경우 처방 성분 중에 보습제, 각종 계면활성제, 오일, Polymer 등의 여러 성분요소들에 의해 방부력 및 항균활성에 많은 영향을 주기 때문에, 이러한 불활성 요소들에 대한 정확한 정보 없이 처방을 수립함으로써 과량의 방부제로 인한 제품 및 인체에 직접, 간접적으로 미치는 영향이 중요한 문제로 부각되고 있다. 따라서 본 실험에서는 방부제의 제품적용시 방부력에 미치는 요인을 정확히 분석하여 최적의 방부 system을 설정하는 것을 주목적으로 하고 있다.

미생물에 의한 오염을 방지하기 위해 사용하는 방부제로서 Paraben(Ester of P-Hydroxybenzoic acid)류가 가장 일반적으로 사용되고 있다. Paraben은 1924년 Sabalitschka⁽¹⁾에 의해 처음 소개된 방부제로서, 그들의 독성 및 피부 자극 면에서 상대적으로 낮은 성질 때문에 화장품의 방부제로 널리 이용되고 있다.⁽²⁾ 강산성의 pH 영역에서만 효과를 갖는 살리실산이나 안식향산의 대체 약제로 쓰게 되어 산성, 중성 및 염기성에 이르는 폭 넓은 pH 영역에서 그 효과를 발휘하는 장점을 지니며, 무색, 무취, 불휘발성 및 화학적으로 좋은 안정성을 특징으로 한다.

이러한 장점으로 인하여 Paraben을 방부제로 널리 사용되고는 있으나, 실제 적용시 방부력 및 항균활성에 좋지 않은 영향을 미치는 여러 요인들에 대한 연구보고 또한 많이 알려져 있다.^(3,4) 계면활성제⁽⁵⁻¹¹⁾, 분배계수, pH 뿐만 아니라 Natrosol, 젤라틴 등과 같은 거대고분자들 또한 Paraben의 방부력에 저해요인으로 작용하고 있다.⁽¹²⁾

이에 본 실험에서는 실제 유화에 많은 함량을 포함하는 오일의 영향을 주요 요인으로 판단하여 유상과 수상사이의 Paraben에 대한 오일의 분배계수를 측정하여, 오일의 분배계수에 미치는 영향을 알아보고 측정된 분배계수와 실제 방부력과의 상관관계를 고찰함으로써 실제 제품적용에 적절한 응용을 할 수 있도록 연구를 수행하였다.

검토할 Paraben은 Methyl 및 Ethyl Paraben으로 선정하고 Hydrocarbon, Ester, Silicone oil류로 오일을 분류하여 각각의 오일에 대하여 Paraben의 온도 변화에 따른 유수 분배계수를 측정 비교하였으며, Propylene Glycol이 오일의 분배계수에 미치는 영향을 동일 실험방

법으로 실험을 수행하였다.

또한 각 오일들의 Paraben에 대한 분배계수와 실제 방부력과의 상관관계를 비교하기 위하여, 분배계수가 다른 오일들을 주 처방으로한 에멀전을 제조하여 Bactometer(bioMerieux 社)를 이용하여 균의 감소 속도를 비교함으로써 알아보았다.

2. 실험

2.1. 실험 재료 및 기기

2.1.1. 시약

본 실험의 오일 및 계면활성제 그 밖에 시료들은 다음과 같다. 오일은 유동파라핀(Drakeol-7[®]), N.squalane, Caster oil, Neopentyl Glycol Dicaprte(EstemolNO-1[®]), Propylen Glycol Dicaprte(Liponate PC[®]) Cyclomethicone(Silicone 244[®]), Polydimethyl Siloxane(Silicone 200f/100cs[®]), Octyl Dodecanol(Eutanol-G[®]), Isononyl Isononanoate (Salacos99[®])을 사용하였고 유화제로는 Polysorbate 60, Sorbitan Sesquioleate을 사용하였으며, 보조유화제로는 Cetostearyl alcohol을 사용하였다.

2.1.2. 균주

본 실험에서 사용한 균주는 *Escherichia coli*(ATCC 10536), *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 15522), *Candida albicans*(ATCC 10231), *Aspergillus niger*(ATCC 9642)를 사용하였다.

2.1.3. 배지

미생물 배양을 위하여 세균은 Nutrient Agar 배지에서, 진균은 Potato dextrose Agar 배지에 접종하여 각각 37℃, 30℃ incubator에서 배양하여 사용하였다.

또한 Bactometer 사용을 위하여, MPCA와 Wort Agar를 각각 세균용과 진균용으로 만들어 사용하였다.

2.1.4. 기기

오일과 방부제 용액과의 혼합을 위해서는 Multi-Point Stirrer(미국 PMC社, Model 730)을 이용하였으며, 방부제의 정량을 위해서는 UV/VIS Spectrophotometer(미국 Perkin-Elmer, Model Lambda 17)을 이용하였다.

에멀전의 제조는 혼합기로 Homomixer(일본, T.K., Model M)을 사용하였다. 또한 미생물 감소 정도를 측정하기 위해서는 미생물 자동계수 측정기로서 Bactometer(미국, bio Merieux, Model 128)를 이용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. Oil : Water Partition Coefficient 측정

0.2% Methyl Paraben과 Ethyl Paraben 수용액을 각각 25ml를 취하여 오일 25ml와 함께 섞은 후, 실온과 80℃에서 각각 Multi-point stirrer를 이용하여 1100rpm에서 10분간 섞는다. Stirring이 끝난후 상분리가 된 시료의 수상부분을 정량적으로 취하여 거름종이(Whatman No. 41)로 잔류 오일을 완전히 제거하였다. 오일을 완전히 제거한 수용액을 적당한 농도로 희석하였다. 이후, Methyl Paraben과 Ethyl Paraben의 정확한 함량을 구하기 위하여 각각의 표준 용액을 이용하여 흡광도를 측정한 후 표준검정곡선을 얻어 정량 하였다. 또한 오일의 유수 분배계수에 미치는 Propylene Glycol의 영향을 알아보기 위하여 10% Propylene Glycol solution에 0.2% Methyl Paraben, 0.1% Ethyl Paraben 수용액을 각각 제조한 후 위에서 설명한 실험 방법에 의해 각각의 함량을 정량 하였다. 흡광도 측정은 Perkin- Elmer社 UV-VIS spectrophotometer를 사용하였으며, 측정파장은 256nm로 고정하였다.

오일의 분배계수는 아래 식에 의하여 계산하였다.

$$Kw = \frac{Ct(1 + \phi) - Cw}{Cw \cdot \phi}$$

Ct : 총방부제의 농도

Cw : 수상의 방부제의 농도

ϕ : Oil : Water 부피비

Kw : Oil : Water 분배계수

2.2.2. 에멀전의 제조

에멀전 제조는 다음의 방법으로 제조하였다.

유동파라핀, N.squalane, Neopentyl Glycol Dicaprte, Propylene Glycol Dicaprte, Caster Oil과 Sorbitan Sesquioleate, Polysorbate 60의 유화제와 보조유화제인 Cetostearyl alcohol을 첨가한 유상을 각각 80℃로 가열 후 수용액상에 첨가하였다. 혼합기인 Homomixer를 이용하여 4분간 3500rpm으로 교반한 후, 30℃까지 냉각하여 에멀전을 만든다(Table.1).

2.2.3. 분배계수에 따른 미생물 감소 측정

각각의 오일들을 주 처방으로 하여 제조한 에멀전 50g에 미생물 5종을 접종한 후 균일하게 섞어주었다. 이 샘플을 일정 시간을 두고 1g씩 취한 후 D/E broth를 이용하여 세균은 10^{-2} , 진균은 10^{-1} 의 비율로 희석하였다. 또한 Bactometer Module에 MPCA와 Wort Agar를 0.5ml씩 분주하여 균인 후, 희석 액을 0.1ml씩 접종하여 Bactometer를 이용하여 균수(Colony Forming Unit)를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 분배계수 측정

오일들에 대한 Methyl Paraben과 Ethyl Paraben의 분배계수를 측정하는데 있어서 중요한 실험 조건들을 선정하고 그에 대한 최적의 조건을 결정하였다.

3.1.1. Stirring Time

Hydrocarbon류, Silicone류 및 Ester류 오일의 분류에 따라 각각의 표준오일로 Isononyl Isononanoate, Octyl Dodecanol, Cyclomethicone, N.Squalane을 선정하여 0.2% Methyl paraben 수용액에 대하여 최적조건 결정 실험을 수행하였다. 각 Oil에 대하여 stirring time을 10분에서부터 6일간 까지 1100rpm으로 교반하면서 실험한 결과를 Fig.1.에 수록하였다. 실험 결과 시간에 따르는 흡광도 변화도 큰 차이가 없었음을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 Stirring Time을 10분으로하여 실험을 수행하였다.

3.1.2. Oil : Water Volume Ratio

수용액과 Oil의 부피가 분배계수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각각의 부피비를 변화시켜 가면서 실험을 수행하였다. Methyl Paraben 수용액과 Oil의 부피를 각각 10:40, 20:30, 25:25, 30:20으로 변화시켜가면서 10분간 stirring 하여 흡광도를 측정하였다. Fig.2.에서 알 수 있듯이 모든 부피 비에서 일정한 분배계수값을 얻었으며, 본 실험에서는 용액과 Oil의 부피 비를 1 : 1로 고정하여 실험을 수행하였다.

3.1.3. Temperature의 영향

화장품 제조에 있어서 실제 유화 온도는 일반적으로 60 - 80℃에서 수행한다. 만일, 실온에서 측정된 분배계수 값이 고온에서 측정된 값과 차이가 있다면 방부제의 실제 작용에 있어서 정확한 예측을 하기 힘들게 된다. 따라서 분배계수를 실온과 80℃에서 각각 측정값을 비교하여 유수 분배계수값의 온도에 대한 영향을 알아보았다.

Table 2.에 각 Oil에 대하여 실온과 80℃에서의 분배계수값을 수록하였다. 표에서 볼 수 있듯이 온도변화에 따른 유수분배계수값이 많은 영향을 받음을 실험적으로 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 모든 Oil에 대하여 실온 및 80℃에서 각각 실험을 수행하여 결과를 비교하였다.

3.1.4. 실험결과

이상에서 검토한 최적조건을 토대로 각 Oil에 대하여 분배계수를 측정하였다, Paraben의 정확한 함량을 측정하기 위하여 0.2% Methyl Paraben 수용액과 0.1% Ethyl Paraben 수용액을 일정량씩 가하여 흡광도를 측정하였다. Fig.3.과 Fig.4.는 Methyl Paraben과 Ethyl Paraben의 수용액에 대한 표준검정곡선이다. 또한, Propylene Glycol의 유수 분배계수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Propylene Glycol이 10% 함유된 0.2% Methyl Paraben과 0.1% Ethyl Paraben 수용액을 제조하여, 각각 일정량씩 취하여 흡광도를 측정하였다. Fig.5., Fig.6.은 각각에 대한 표준검정곡선이다.

모든 Oil에 대하여 앞에서 결정된 최적조건으로 실험을 수행하였다. 실온과 80℃, 수용액과 10% Propylene Glycol 수용액으로 구분하여 실험한 후 Methyl Paraben 과 Ethyl Paraben의 함량을 작성된 표준검정곡선을 바탕으로 정량 하였다. 결정된 함량을 분배계수 계산식을 이용하여 분배계수값을 계산하여 Table.3에 수록하였다.

표.3에서 볼 수 있듯이, 대부분의 오일들이 실온보다는 80℃에서 낮은 분배계수 값을 얻

음을 알 수 있다. Paraben의 용해도는 실온에서 Methyl Paraben 0.25%, Ethyl Paraben 0.17%, 80℃에서는 각각 2.0%, 0.86%로서 80℃에서 실온보다 4 - 8배의 용해도가 증가됨이 알려져 있다.⁽¹³⁾ 따라서, 실제 유향 온도인 80℃에서 Paraben은 유상부보다는 수상부에 많이 존재하고 있으며, 분배계수 역시 온도가 올라 갈수록 낮은 값을 얻음을 실험적으로 알 수 있었다.

또한, Oil의 종류에 따라서 분배계수값은 많은 차이를 볼 수 있다. Ester류 Oil은 Hydrocarbon류 Oil, Silicone류 Oil과는 매우 대조적인 결과를 보여준다. Ester류 Oil의 분배계수값은 높은 반면 Hydrocarbon류와 Silicone류 Oil의 Paraben의 분배계수값은 매우 낮음을 알 수 있다.

즉, Hydrocarbon류와 Silicone류와의 Oil 존재 시에는 Paraben이 Oil쪽으로 Orientation이 되지 않고 수상부에 그대로 존재함을 실험적으로 알 수 있었다. 이는 Paraben의 구조와 Oil의 구조로서 설명할 수 있는데, Ester류 Oil의 Hydrophilic Ester 작용기와 Paraben의 Hydrophilic 작용기와의 상호작용에 의한 영향으로 설명 할 수 있다.

Propylene Glycol이 오일의 유수분배계수에 미치는 영향은 표에서 볼수 있듯이, 전체적인 분배계수값을 낮춰주는 중요한 역할을 하고 있음을 실험적으로 알 수 있다. 문헌에서 보면,⁽¹³⁾ Propylene Glycol에 대한 Paraben의 용해도는 실온의 물에서 보다 Methyl Paraben의 경우 88배, Ethyl Paraben의 경우 150배의 용해도 상승효과가 있다고 보고되며 이러한 용해도 증가 작용으로 인하여 Propylene Glycol이 수용액상에 존재할 경우 Paraben의 수상잔류량이 증가된다고 설명할 수 있다.

이상에서 검토한 바와 같이, 오일의 유수분배계수는 Oil의 종류 및 온도, Propylene Glycol의 유무에 의해 많은 차이를 볼 수 있으며, 본 자료를 실제 방부 system 적용에 보다 정확한 접근을 할 수 있으리라 생각된다.

3.2. 분배계수가 다른 오일을 함유한 에멀전의 균 사멸속도 측정

분배계수가 서로 다른 5종의 오일들을 주 처방으로 사용하여 제조한 에멀전을 이용하여 방부력을 알아보았다.^(14,15)

각 에멀전에 세균(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*)과 진균(*Candida albicans*, *Aspergillus niger*)를 각각 NA와 PDA에 streaking 한 후, 37℃와 30℃ incubator에서 16hr과 48hr 배양 후 접종균으로 이용하였다.

접종 후 세균은 0, 1, 2, 4시간 간격으로, 진균은 0, 2, 4, 8시간 간격으로 샘플을 취하여

D/E broth로 각각 10^{-2} , 10^{-1} 으로 희석한 후 희석액 0.1ml을 MPCA와 Wort Agar가 0.5ml씩 분주하여 굳어진 Bactometer Module에 접종하여, *E. coli* 와 *P. aeruginosa* 는 24시간, *S. aureus* 는 30시간, 진균은 48hr동안 배양하면서 균수(CFU) 변화를 측정하였다.

각 오일들의 Paraben류에 대한 분배계수가 낮다는 것은 결국 Paraben류가 방부제로서의 역할을 수행할 수 있는 수상에 많이 존재하고 있다는 것을 의미한다. 그러므로 이론상으로는 분배계수가 낮은 오일을 주 처방으로 함유하고 있는 에멀전이 높은 분배계수를 가진 오일을 함유하고 있는 에멀전에 비해서 균의 사멸속도가 빨라야 한다는 것을 예상할 수 있다.

Fig.7.은 *E. coli* 에 대한 5종류 에멀전의 실험결과이다. 보는 바와 같이 가장 높은 분배계수를 갖는 Caster Oil을 주 처방으로 함유한 에멀전 A의 경우, 4시간후에도 완전 사멸이 되지 않는 것에 비해 상당히 낮은 분배계수를 갖는 N.Squalane과 유동파라핀을 주 처방으로 함유한 에멀전 D와 E는 2시간후부터는 완전사멸되었음을 볼 수 있다. 다만, *A. niger* 의 경우는 세균이나 효모에 비해서 사멸속도가 뒤지는 것을 알 수 있다 (Fig.8-11.).

또한 화장품산업에서 보습제의 역할로 널리 쓰이고 있는 Propylene Glycol은 Paraben류에 대한 용해도가 물에 비해 높고, 물과도 잘 섞이므로 Propylene Glycol의 10% 함유한 에멀전도 제조하여 위와 같은 실험을 수행하여 Fig.12.와 같은 결과를 얻었다. Fig.9.에 비해서 빠른 *S. aureus* 의 사멸속도를 보여주었다. 그러나 이 결과가 Propylene Glycol에 의해서 낮아진 분배계수 영향인지 아니면 Propylene Glycol 자체의 항균력에 의한 것인지를 알아보기 위해서는 연구가 더 필요할 것 같다.

Methyl Paraben 대신에 Ethyl Paraben과 Propyl Paraben을 첨가한 에멀전에서도 결과를 실지 않았지만 Methyl Paraben과 같은 결과를 보여주었다.

4. 결 론

1. 오일의 Paraben에 대한 유수분배계수는 온도에 큰 영향을 받으며, 실온에서보다는 80℃의 고온에서 보다 낮은 분배계수값을 보인다.
2. 오일 종류에 따라 Paraben에 대한 분배계수는 큰 차이를 보인다.
Hydrocarbon류, Silicone류 Oil의 경우 매우 낮은 분배계수를 보이며, Ester류 Oil의 경

우 보다 높은 분배계수값을 얻음을 알 수 있다.

3. Propylene Glycol은 오일의 유수분배계수에 많은 영향을 주며 Propylene Glycol 존재시 분배계수값을 낮춰줌을 알 수 있다.
4. 분배계수가 낮은 N. Squalane이나 유동파라핀을 주 처방으로 함유한 에멀전 D와 E가 높은 분배계수를 가진 오일을 함유한 에멀전에 비해서 균의 빠른 사멸속도를 보여주었다.
5. 유동파라핀과 N.squalane 을 함유한 에멀전은 비슷한 방부력을 보여주었고 다음은 Neopentyl Glycol Dicaprate, Propylene Glycol Dicaprate, 그 다음이 Caster oil을 함유한 에멀전 순으로 방부력이 우수하였다.

Abstract

In this study, the relationship between partition coefficients(K_w) of oils and antimicrobial effects was investigated. The antimicrobial activity of paraben has been known to be controlled by the concentration of the paraben in the aqueous phase. The concentration of paraben in the aqueous phase was measured by the UV/VIS spectrophotometer at the wavelength of 256nm. It was found that the hydrocarbon oils and silicone oils had the lowest K_w value(<1.0) among the tested oils. Also, the emulsions which were made of oils having low K_w values had a good antimicrobial effects. Thus, the cosmetic safety against microorganisms could be improved by using the oils which have low K_w values.

참 고 문 헌

- 1 Sabalitschka,T,O"sterr, Apoth. Ztg., 3, 458 (1949).
2. Orth,D.S., J.Soc. Cosmet. Chem., 31, 165-172 (1980).
3. Cosmetic Science and Technology, Vol.3.
4. Handbook of Cosmetic Sci. and Tech. 1st Ed., 440 (1993).
5. Bolle,A.,and Mirrmanoff, A., J.Pharm. Pharmacol., 2, 685 (1950).
- 6 De Navarre, M. G., and Bailey, H. E., JSCC, 7, 427 (1956).
7. Blaug, S. M., and Ahsan, S. S., J. Pharm. Sci., 50(5), 441 (1961).
8. Aoki, M., Kamada, A., and Matsuzaki,T., Yakugaku Zasshi, 77, 1071 (1957).
9. Evans, W. P., J. Pharm. Pharmacol., 16, 323 (1964).
10. Patel, N.k., J. Am. Pharm. Assoc., 47, 289 (1958).
11. D. Charles, J. Soc. Cosmetic Chemists., 10, 382 (1959).
12. Miyawoki, G. M., Patel, N. K., and Kostenbauder, H. B., J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 48(6), 315 (1959).
13. AALTO,T.R., Firman, M.C., and Rigler,N.E., J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 42(8), 449 (1953).
14. Y. Ogawa,T. Shimamoto. 일본화장품기술자회 회지, 12, 60 (1977).
15. T.Shimamoto, Y. Ogawa, Chem. Pharm. Bull., 23, 3088 (1975).

Table.1 Formulations of Emulsion

Emulsion구분	Caster oil		Propylene Glycol Dicaprte		Neopentyl Glycol Dicaprte		Squalane		Liquid Paraffin	
	A	A'	B	B'	C	C'	D	D'	E	E'
Methyl Paraben	0.20%	—	0.20%	—	0.20%	—	0.20%	—	0.20%	—
Ethyl Paraben	—	0.10%	—	0.10%	—	0.10%	—	0.10%	—	0.10%
분배계수 (Kw)	63.40	127	27.50	20.74	18.62	15.70	0.02	0.08	0.06	0.32

* 각처방에 대해서 10% Propylene Glycol 첨가 유무에 따른 실험을 동시에 수행함.

Table.2 The Effects of Temperature

구 분	단위:Kw	
	RT	80°C
Isononyl Isononanoate	10.80	4.60
Octyl Dodecanol	16.90	9.23
Cyclomethicone	0.11	0.11
N. Squalane	0.02	0.02

Table.3 Oil:Water Partition Coefficient

Oil	정제수						10% Propylene Glycol					
	Methyl Paraben		Ethyl Paraben		Methyl Paraben		Ethyl Paraben		Methyl Paraben		Ethyl Paraben	
	RT	80°C	RT	80°C	RT	80°C	RT	80°C	RT	80°C	RT	80°C
N. Squalane	0.02	0.02	0.08	0.17	0.02	0.01	0.10	0.11	0.02	0.01	0.10	0.11
Liquid Paraffin	0.06	0.09	0.32	0.22	0.25	0.20	0.10	0.13	0.25	0.20	0.10	0.13
Cyclomethicone	0.12	0.17	0.10	0.11	0.22	0.02	0.20	0.20	0.22	0.02	0.20	0.20
Polydimethyl Siloxane	0.14	0.13	0.45	0.41	0.07	0.04	0.47	0.43	0.07	0.04	0.47	0.43
Isononyl Isononanoate	10.80	4.60	35.90	19.10	8.33	3.12	26.90	12.30	8.33	3.12	26.90	12.30
Neopentyl Glycol Dicaprate	18.62	9.73	15.70	13.93	15.04	6.28	14.38	11.64	15.04	6.28	14.38	11.64
Propylene Glycol Dicaprate	27.50	14.10	20.74	16.86	20.30	8.30	17.23	13.93	20.30	8.30	17.23	13.93
Caster Oil	63.40	21.00	127.20	115.27	38.40	16.40	90.30	43.10	38.40	16.40	90.30	43.10

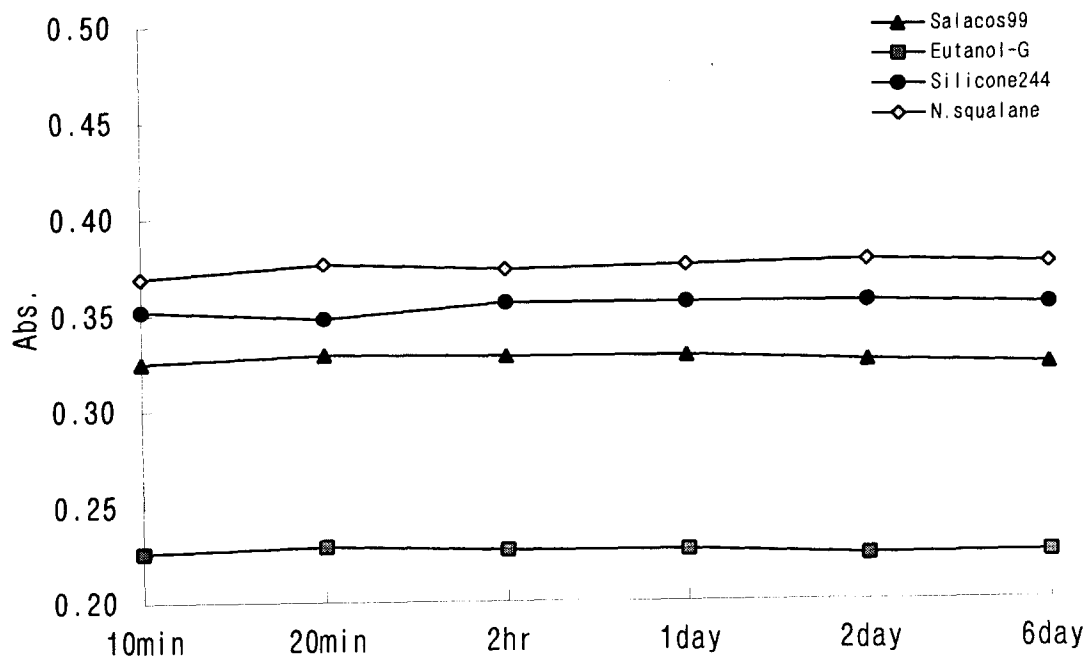


Fig. 1. The Effects of Stirring Time

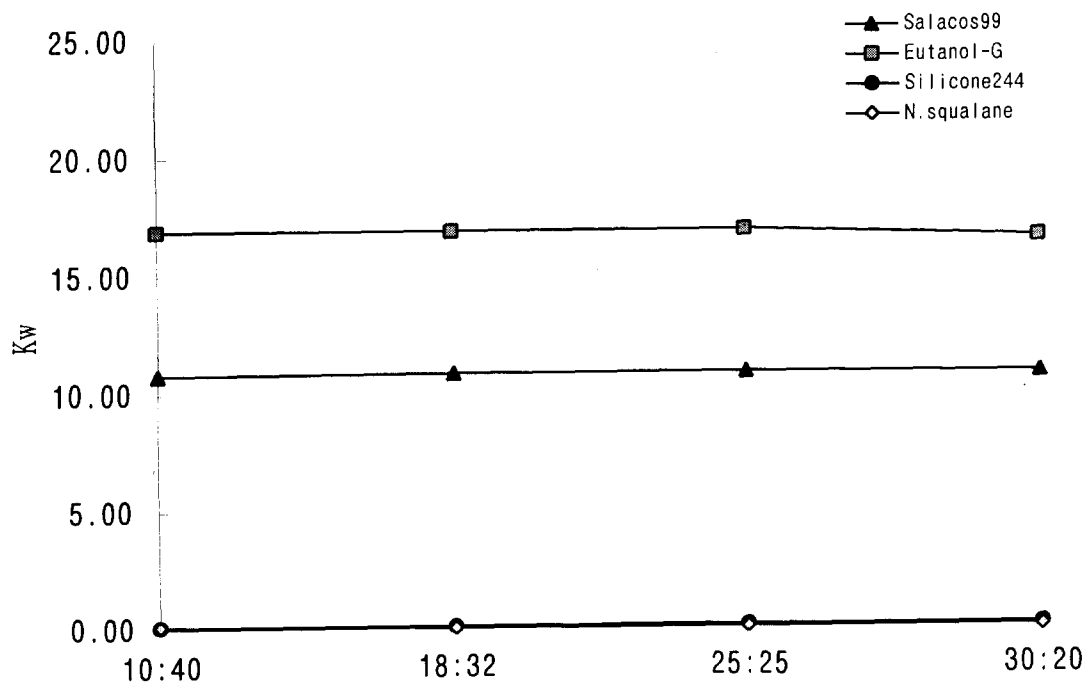


Fig. 2. The Effects of O/W Volume Ratio

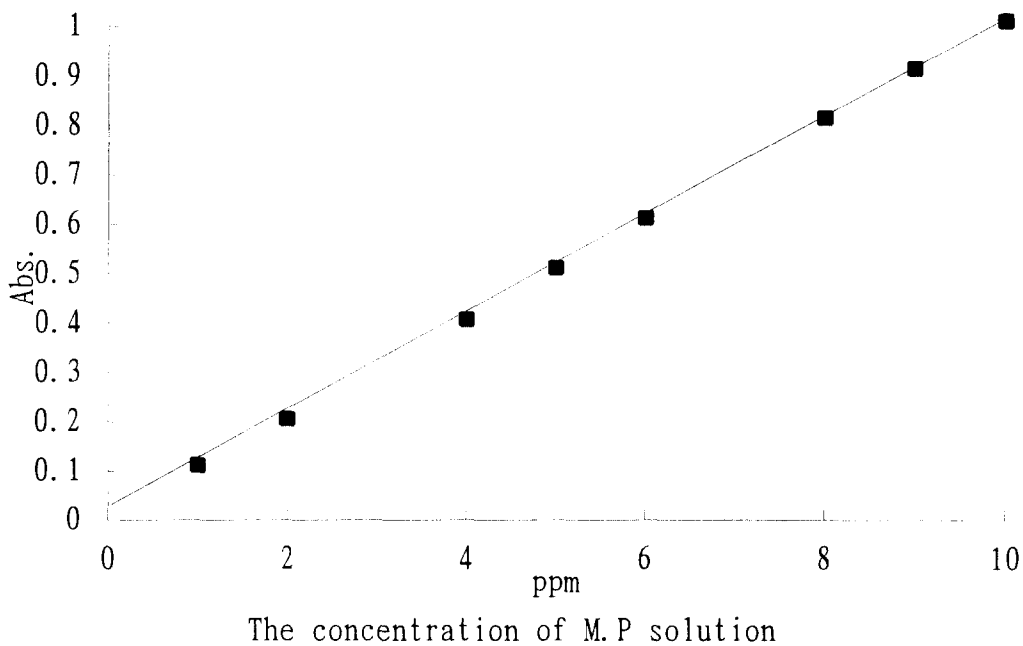


Fig. 3. Calibration Curve of M.P Standard Solution

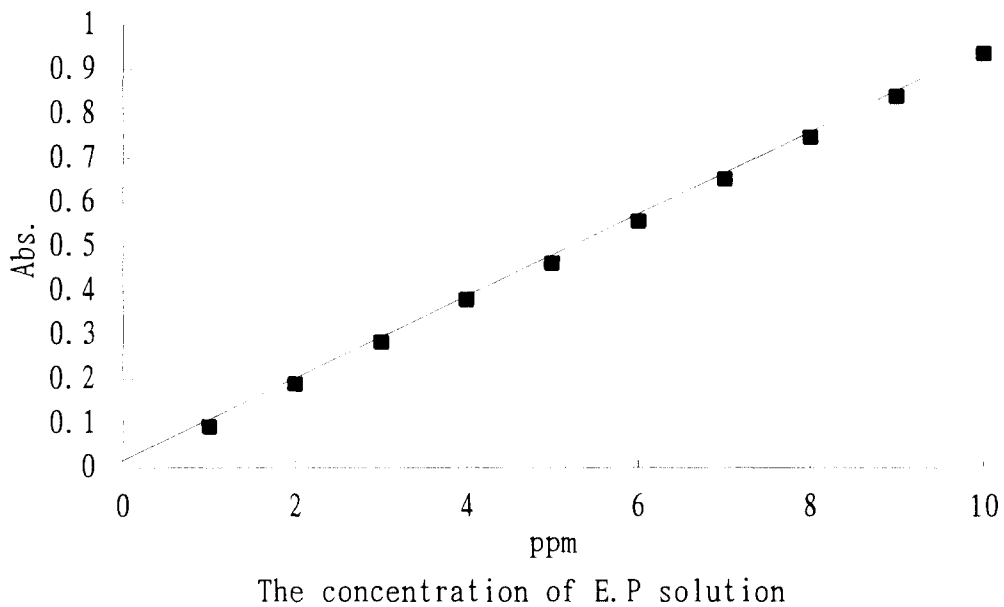
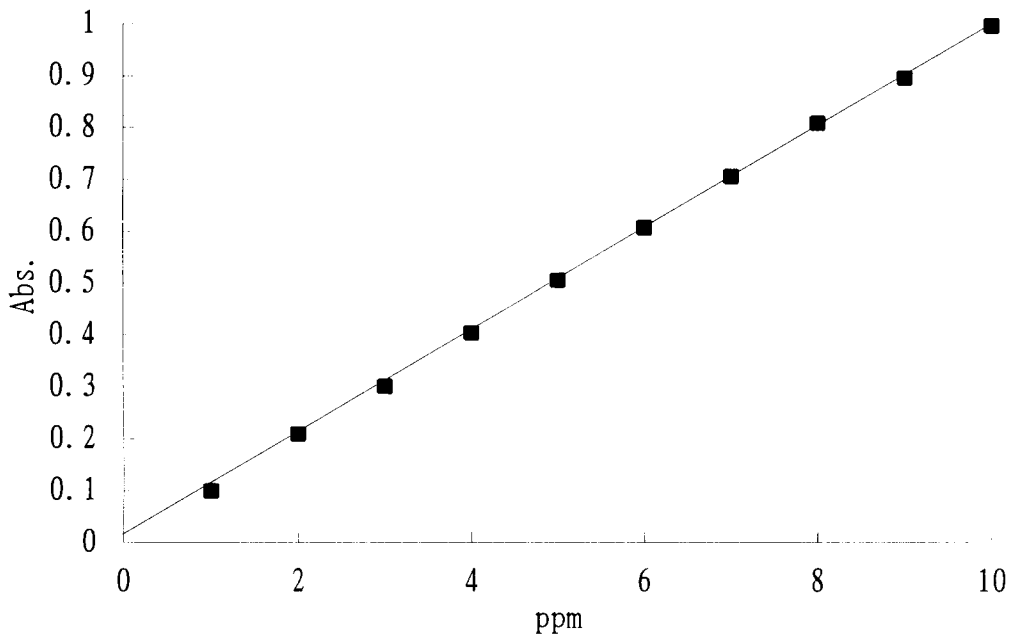
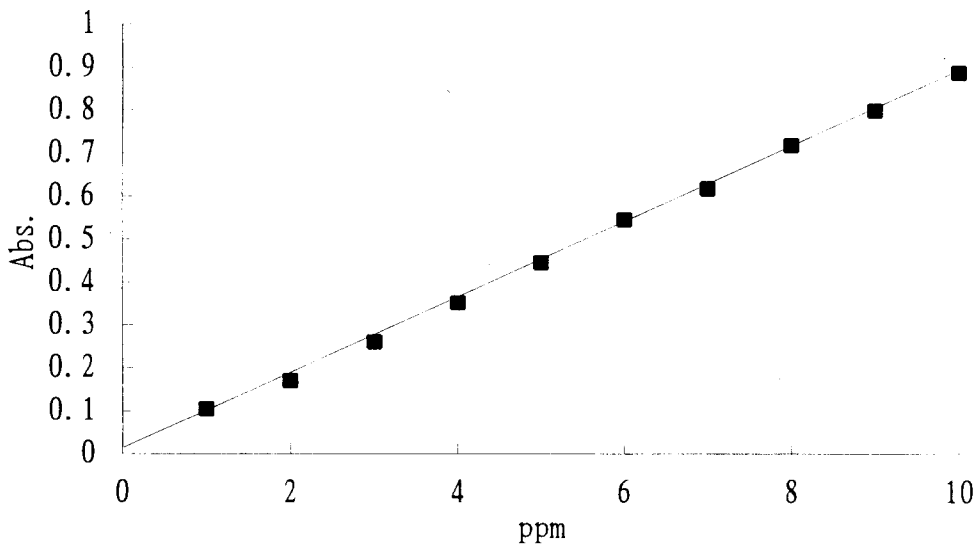


Fig. 4. The Calibration Curve of E.P Standard Solution



The concentration of M.P in 10% P.G solution

Fig. 5. The Calibration Curve of M.P in 10% P.G Solution



The concentration of E.P in 10% P.G solution

Fig. 6. The Calibration Curve of E.P in 10% P.G Solution

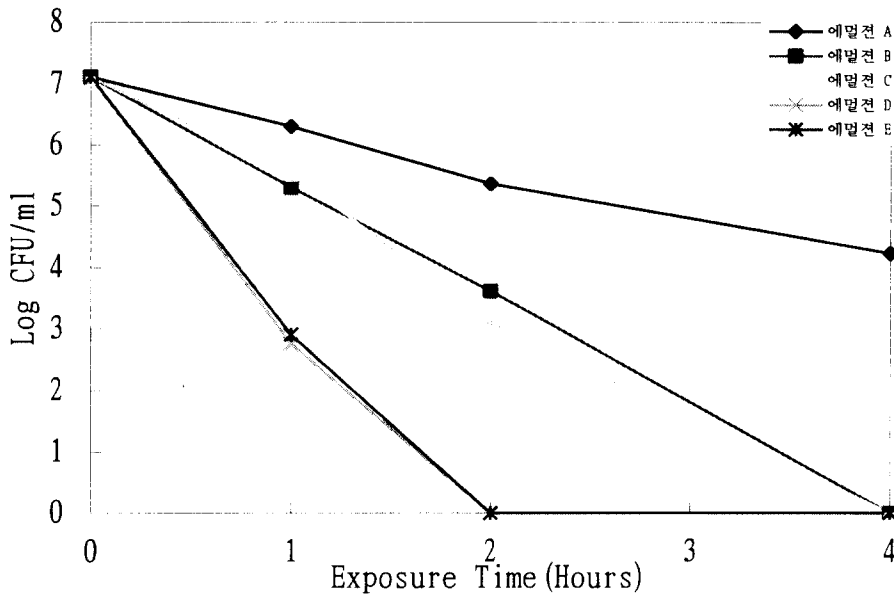


Fig. 7. The Antimicrobial effect of Emulsions on *E. coli*

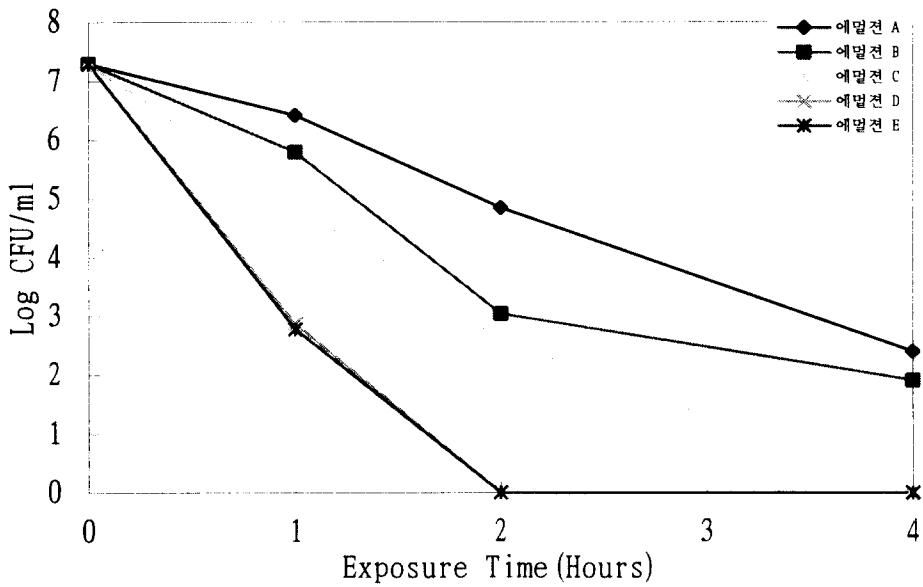


Fig. 8 The Antimicrobial effect of Emulsions on *P. aeruginosa*

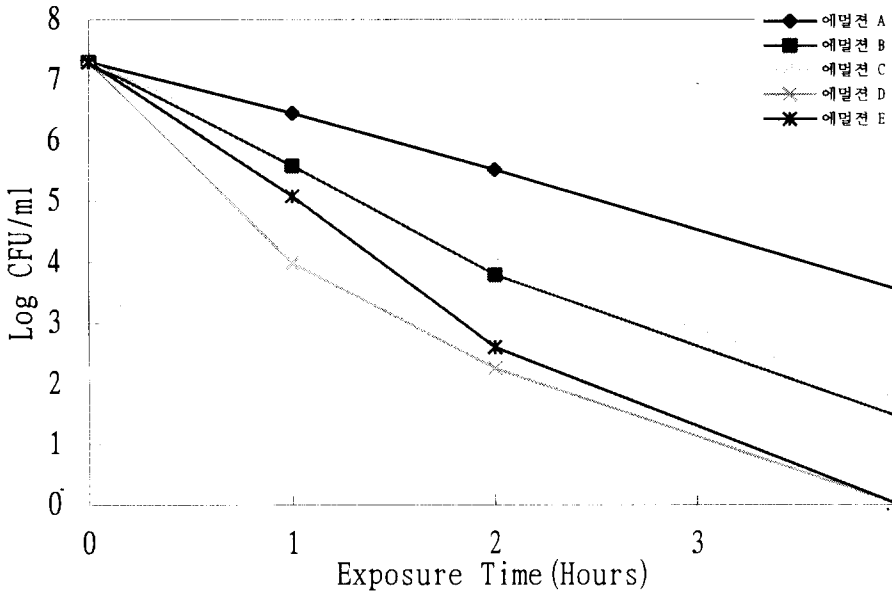


Fig. 9. The Antimicrobial effect of Emulsions on *S. aureus*

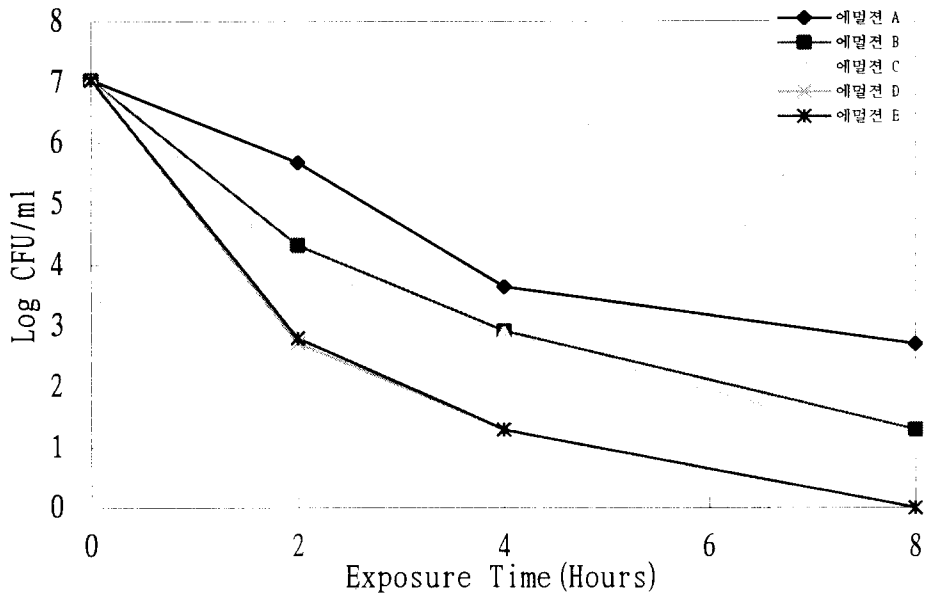


Fig. 10. The Antimicrobial effect of Emulsions on *C. albicans*

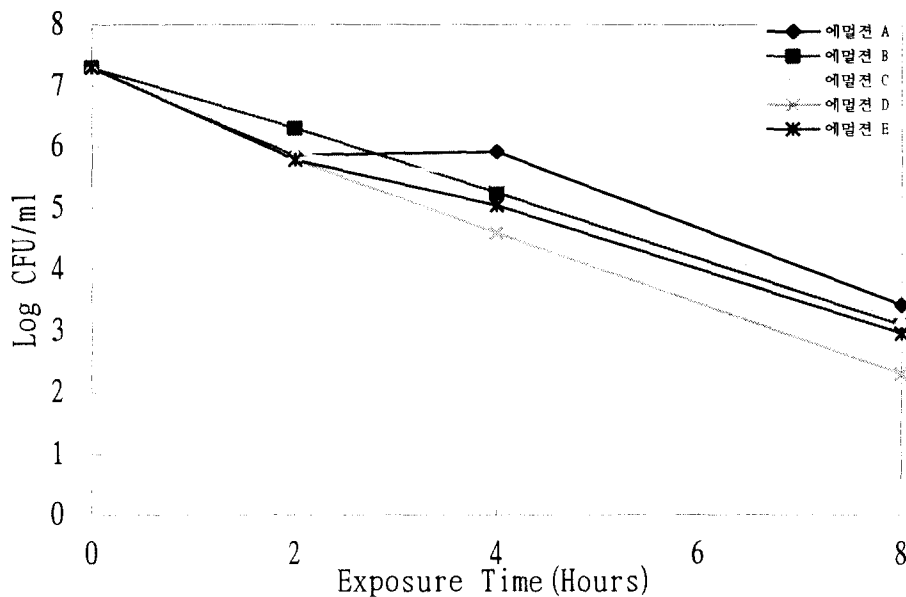


Fig. 11. The Antimicrobial effect of Emulsions on *A. niger*

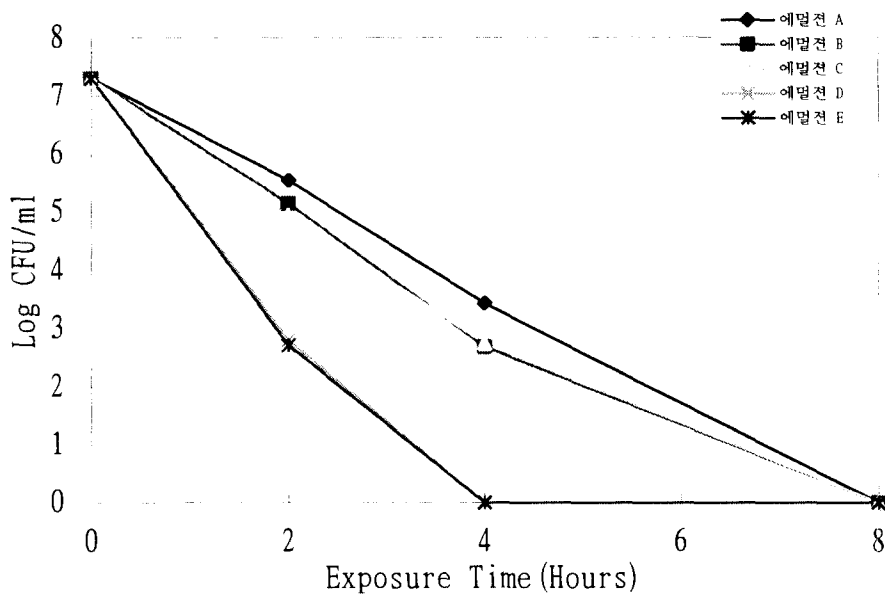


Fig. 12. The Antimicrobial effect of Emulsions on *S. aureus* by addition of 10% Propylene Glycol